

Aus dem Institut für Humangenetik der Universität Marburg
Direktor: Professor Dr. G. G. Wendt

ÜBER DEN EINFLUSS VON
ÄTHINYLÖSTRADIOL AUF DIE
MONOAMINOXYDASE-AKTIVITÄT IN VERSCHIEDENEN
ORGANEN DER RATTE
(IN-VITRO- UND IN-VIVO-VERSUCHE)

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde
dem Fachbereich Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg
vorgelegt von

AXEL SCHLICHT
aus Geldern

Marburg 1975

Druck: Görlich & Weiershäuser, Marburg (Lahn)

ÜBER DEN EINFLUSS VON
ÄTHINYLÖSTRADIOL AUF DIE
MONOAMINOXYDASE-AKTIVITÄT IN VERSCHIEDENEN
ORGANEN DER RATTE
(IN-VITRO- UND IN-VIVO-VERSUCHE)

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde

dem Fachbereich Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

AXEL SCHLICHT
aus Geldern

Marburg 1975



Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin der
Philipps-Universität Marburg am 6.5.1975

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs

Dekan:	Prof. Dr. H. Oepen
Referent:	Prof. Dr. H. Oepen
Correferent:	Prof. Dr. T. Kleine

Inhaltsverzeichnis

1.	<u>EINLEITUNG</u>	1
2.	<u>IN - VITRO - VERSUCHE</u>	3
2.1.	<u>Material und Methodik</u>	3
2.1.1.	<u>Herkunft und Art der Ratten</u>	3
2.1.2.	<u>Vorbehandlung der Tiere</u>	3
2.1.3.	<u>Tötung und Sektion</u>	3
2.2.	<u>Durchführung der Versuche</u>	3
2.2.1.	<u>Benötigte Substanzen und Reagentien</u>	4
2.2.2.	<u>MAO-Aktivitätsbestimmung</u>	4
2.2.3.	<u>Versuchsablauf</u>	5
2.3.	<u>Ergebnisse der in-vitro-Versuche</u>	6
2.3.1.	<u>Erklärung der graphischen Darstellungen</u>	6
2.3.2.	<u>Einzelwerte, Mittelwerte, Standardabweichungen</u>	7
2.3.3.	<u>Zusammenfassung der Ergebnisse der in-vitro-Versuche</u>	16
3.	<u>IN - VIVO- KURZZEITVERSUCHE</u>	17
3.1.	<u>Material und Methodik</u>	17
3.1.1.	<u>Herkunft und Art der Ratten</u>	17
3.1.2.	<u>Vorbehandlung der Tiere</u>	17
3.1.3.	<u>Tötung und Sektion</u>	18
3.2.	<u>Durchführung der Versuche</u>	18
3.2.1.	<u>Benötigte Substanzen und Reagentien</u>	18

3.2.2.	<u>MAO - Aktivitätsbestimmung</u>	19
3.2.3.	<u>Versuchsablauf</u>	19
3.3.	<u>Ergebnisse der in-vivo-Kurzzeitversuche</u>	19
3.3.1.	<u>Erklärung der graphischen Darstellungen</u>	19
3.3.2.	<u>Einzelwerte, Mittelwerte, Standardabweichungen</u>	19
3.3.3.	<u>Zusammenfassung der Ergebnisse der in-vivo-Kurzzeitversuche</u>	30
4.	IN -VIVO - LANGZEITVERSUCHE	32
4.1.	<u>Material und Methodik</u>	32
4.1.1.	<u>Herkunft und Art der Ratten</u>	32
4.1.2.	<u>Vorbehandlung der Tiere</u>	32
	a) <u>für den Vorversuch zum in-vivo-Langzeitversuch</u>	32
	b) <u>für den in-vivo-Langzeitversuch</u>	32
4.1.3.	<u>Tötung und Sektion</u>	33
4.2.	<u>Durchführung der Versuche</u>	33
	Siehe 3.2.1.	
	3.2.2.	
	3.2.3.	
4.3.	<u>Ergebnisse der in-vivo-Langzeitversuche</u>	33
4.3.1.	<u>Erklärung der graphischen Darstellungen</u>	33
4.3.2.	<u>Einzelwerte, Mittelwerte, Standardabweichungen</u>	34
4.3.3.	<u>Zusammenfassung der Ergebnisse der</u>	
	a) <u>Vorversuche der in-vivo-Langzeitversuche</u>	36

b) in-vivo-Langzeitversuche

46

5. DISKUSSTON

48

5.1. Einfluß des Alters auf die MAO-Aktivität

48

5.2. Einfluß des Geschlechts auf die MAO-Aktivität

49

5.3. Topographische Unterschiede

49

5.4. Stammesspezifische Unterschiede bei Ratten

50

5.5. Beeinflussung der MAO-Aktivität durch Sexualhormone

50

5.6. Methodische Anmerkungen

53

6. ZUSAMMENFASSUNG

56

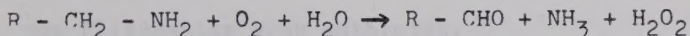
7. LITERATURVERZEICHNIS

57

1. EINLEITUNG

Seit etwa 15 Jahren wird in verschiedenen Laboratorien der Einfluß von Hormonen auf die Aktivität der Monoaminoxvdase (= MAO) untersucht (WEISSBACH, UDENFRIEND et al. 1960; ZOLOVICK, PEARSE, BOEHLKE und ELEFTHERIOU 1966, LEMAY, BERLINGUET 1967, PRANGE, WHITE, LIPTON and KINKRAD 1967). Unter anderem wurde festgestellt, daß die exogene Zufuhr oder vermehrte endogene Ausschüttung bestimmter Sexualhormone zu einer Senkung der MAO-Aktivität im Gehirn führt (ZOLOVICK, PEARSE, BOEHLKE und ELEFTHERTIOU 1966, KAMBERI and KOBAYASHI 1970; SCHRÖDER 1973; HERZ 1974; SCHNEIDER und OEPEN 1974). Ähnliche Untersuchungen an inneren Organen unterschiedlicher Versuchstiere weisen ebenfalls eine Abhängigkeit der Enzymaktivität von Sexualhormonen nach (WURTMAN and AXELROD 1963; REH 1973; STRAEHLER-POHL 1975).

Monoamine - wie Tyramin, Dopamin, Noradrenalin und Serotonin - wirken unter anderem als Transmitter, Hormone oder Vorstufen von Hormonen. Sie werden von der MAO durch Katalyse ihrer oxvdative Desaminierung gemäß der Gleichung



inaktiviert.

Aufgrund vorangegangener Untersuchungen kann vermutet werden, daß ein direkter quantitativer Zusammenhang

zwischen biogenen Aminen und Steroidhormonen besteht.

In der vorliegenden Arbeit soll durch in- vitro- und in- vivo - Versuche untersucht werden, inwieweit auch Äthinylöstradiol (=Ä.) einen Einfluß auf die MAO-Aktivität in den Rattenorganen Hirn, Lunge, Herz, Leber, Niere, Milz, Ovarien und Hoden hat.

Schon mehrmals ist auf einen Zusammenhang zwischen weiblichen Sexualhormonen und der MAO-Aktivität hingewiesen worden (SALSEDUC, JOFRE und IZQUIERDO 1966; KLAIBER, BROVERMAN und KOBAYASHI 1972). Die Verwendung eines synthetischen Östrogens wie Äthinylöstradiol erschien uns unter anderem wegen seiner langsameren Inaktivierung in der Leber interessant. Sie könnte eine Ursache für die unterschiedliche Wirkung und vor allem die Nebenwirkungen kontrazeptiver Pharmaka sein, in denen dieses Hormon enthalten ist. Damit gewinnt eine primär molekularbiologisch und (z. B. in der Choreaforschung) phaenogenetisch aufschlußreiche Fragestellung unter anderem für die genetische Beratung auch praktische Bedeutung.

2. IN - VITRO - VERSUCHE

2.1. Material und Methodik

2.1.1. Herkunft und Art der Ratten

Für die in-vitro-Versuche wurden männliche Ratten vom Stamm "Spangioli" verwendet. Sie wurden vom Zentralinstitut für Versuchstierzucht in Hannover geliefert und hatten ein Gewicht von ca. 300 g pro Tier.

2.1.2. Vorbehandlung der Tiere

Bis zum Versuchstag wurden die Ratten unter üblichen Laborbedingungen gehalten (normales Tageslicht, Temperatur ca. 20° C, nicht konstante Luftfeuchtigkeit). Die Nahrung bestand aus der Standard - Diät "Altromin^R" (der Firma Altromin GmbH, Lage/Lippe) und Leitungswasser ad libitum.

2.1.3. Tötung und Sektion

Die Tiere wurden mit Äther betäubt und durch Halswirbelschnitt getötet. Die Äthernarkose hat nach SCHNEIDER keinen Einfluß auf die MAO-Aktivität. Dann wurden ihnen die Organe entnommen, diese von Fettgewebe und serösen Häuten befreit und mit Hilfe von Fließpapier grob entblutet.

2.2. Durchführung der Versuche

2.2.1. Benötigte Substanzen und Reagentien

- a) Untersuchte Organe: Hirn
Lunge
Herz
Leber
Niere
Milz
Hoden
- b) Hormon : Äthinylöstradiol in
kristalliner Form, bezogen
von der Firma Merck, Darmstadt
- c) Lösungen : 0,25 mol Rohrzuckerlösung,
Natriumphosphatpuffer (pH = 7,8),
Tyramin gelöst in aqua dest. (Kon-
zentration $6\mu\text{mol/l}$), Semicarba-
cidhydrochlorid (eingestellt auf
pH 7,8; Konzentration $25\mu\text{mol/l}$),
 HClO_4 (0,6 n).

2.2.2. MAO-Aktivitäts-Bestimmung

Eine empfindliche Methode zur Bestimmung der MAO-Aktivität im Gewebe durch Aldehydsemicarbazonmessung haben POPOV und Mitarbeiter 1971 beschrieben. Dabei wird der durch die oxydative Desaminierung des Aminsubstrates gebildete Aldehyd an Semicarbacid gebunden. Die Konzentration des entstehenden stabilen Aldehydsemicarbazonkomplexes kann mit Hilfe eines Photometers im UV-Bereich gemessen werden.

Eine kritische Untersuchung von SCHRÖDER (1973) bestätigte die Brauchbarkeit der Methode von POPOV und Mitarbeitern.

2.2.3. Versuchsablauf

Die präparierten Organe von fünf Ratten wurden mit einer Schere zerkleinert. Zu einem Teil Organgewebe wurden drei Teile einer 0,25 mol Rohrzuckerlösung zugegeben. Anschließend wurde mit einem Glashomogenisator mit Teflon - Stempel nach POTTER - ELVEJHEM homogenisiert. Daraufhin wurden zu je 2 ml eines Organhomogenates

2,5 mg Äthinylostradiol	
5,0 mg	"
10,0 mg	"
20,0 mg	"

zugegeben. Den Kontrollproben der jeweiligen Organe wurde kein Hormon zugesetzt. Um eine bessere Löslichkeit der in kristalliner Form vorliegenden Hormone zu erzielen, wurde mit dem Glashomogenisator nochmals fünf Minuten homogenisiert. Da nach KUHS (1973) die MAO-Aktivität nach einer Stunde Vorinkubation bei 37° C ihr Maximum erreicht, wurden die Proben eine Stunde vorinkubiert. Danach wurden pro Hormon - und Organansatz 2 mal 7 Reagenzgläser mit je 0,2 ml Homogenat und 2,8 ml Lösungsgemisch beschickt. Die 2,8 ml Lösungsgemisch setzen sich zusammen aus 1,5 ml Natriumphosphatpuffer (pH = 7,8), 0,3 ml aqua-bidest., 0,5 ml Tyraminsubstrat (Konzentration: 6 µmol/l),

sowie 0,5 ml Semicarbacid-hydrochlorid (eingestellt auf pH 7,8; Konzentration $25 \mu\text{mol/l}$). Dieses Lösungsgemisch wurde mit einer auf 2,8 ml eingestellten automatischen Pipette zu den Homogenaten hinzugegeben. Die jeweils erste der 7 Proben diene als Leerwert. Aus diesem Grund wurden die Reaktionen in diesen Proben sofort durch Zugabe von 1 ml Perchlorsäure (0,6 n) gestoppt. Nach einer Inkubationszeit von 20 Minuten (Wasserbad bei 37°C) wurde die Reaktion in den übrigen Reagenzglasproben durch Zugabe von 1 ml HClO_4 gestoppt. Die Hirnproben wurden 10 Minuten bei $2000 \times g$, die übrigen 30 Minuten bei $100000 \times g$ zentrifugiert. Der Überstand wurde in Quarzküvetten gefüllt und die Extinktion des Aldehydsemicarbazonkomplexes gegenüber dem jeweiligen Leerwert im UV-Bereich bei 235 nm gemessen (Photometer: PMQ II, Firma C. Zeiss, Oberkochen).

2.3. Ergebnisse der in - vitro - Versuche

2.3.1. Erklärung der graphischen Darstellungen

Pro Hormonansatz wurden 2 mal 6 Proben gegen ihren Leerwert gemessen. Aus den so erhaltenen 12 Werten wurde der Mittelwert und die Standardabweichung errechnet. Beide Größen gehen in die graphische Darstellung ein, wobei die Standardabweichung die Abweichung der Einzelwerte vom Mittelwert veranschaulicht. Die jeweiligen Kontrollwerte werden als ge-

strichelte Säulen dargestellt.

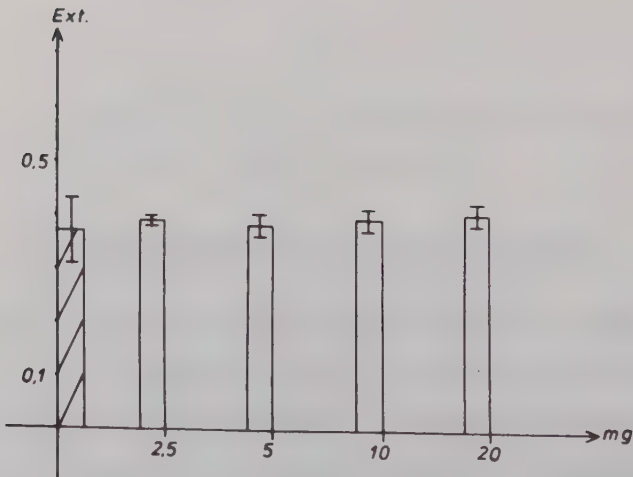
2.3.2. Einzelwerte, Mittelwerte, Standardabweichungen

Die Einzelwerte, Mittelwerte und Standardabweichungen werden im Anhang tabellarisch aufgeführt.

GRAPHISCHE DARSTELLUNGEN

In den Abbildungen 1 bis 7 wird die in-vitro-Wirkung vier verschiedener Mengen Äthinylöstradiol auf die MAO-Aktivität von Hirn, Lunge, Herz, Leber, Niere, Milz und Hoden - Organhomogenate von jeweils fünf Ratten - im Vergleich zur Kontrolle (ohne Hormonzusatz, gestrichelte Säulen) dargestellt.

Abb. 1: Hirn, Ratte ♂ (n = 5), in-vitro
MAO-Aktivität unter Äthinylöstradiol

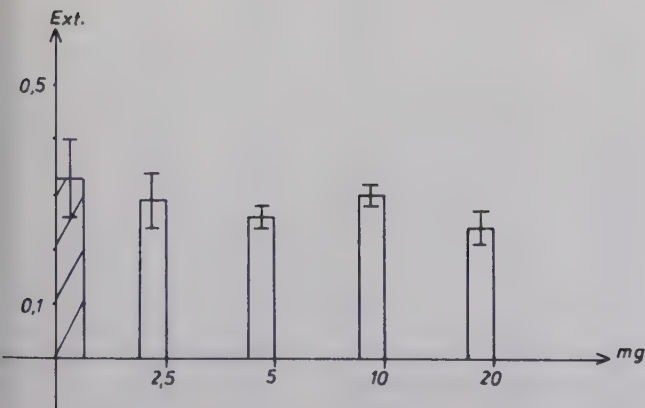


In der Abbildung 1 zeigt sich, daß die erhaltenen Werte alle etwas höher sind als der Kontrollwert, ihre Standardabweichungen aber alle innerhalb der Standardabweichung des Kontrollwertes liegen. Die Enzymaktivität der MAO wird im Hirn in vitro durch Äthinylöstradiol in den hier vorliegenden Größenordnungen also nicht nachweisbar beeinflusst.

Die Extinktion betrug im einzelnen nach Zugabe von:

	Mittelwert	Standardabweichung
0,0 mg Ä./2 ml Hirnhomogenat	0,37	0,06
2,5 mg Ä./2 ml "	0,39	0,01
5,0 mg Ä./2 ml "	0,38	0,02
10,0 mg Ä./2 ml "	0,39	0,02
20,0 mg Ä./2 ml "	0,40	0,02

Abb. 2: Lunge, Ratte ♂ (n = 5), in vitro
MAO-Aktivität unter Äthinylöstradiol

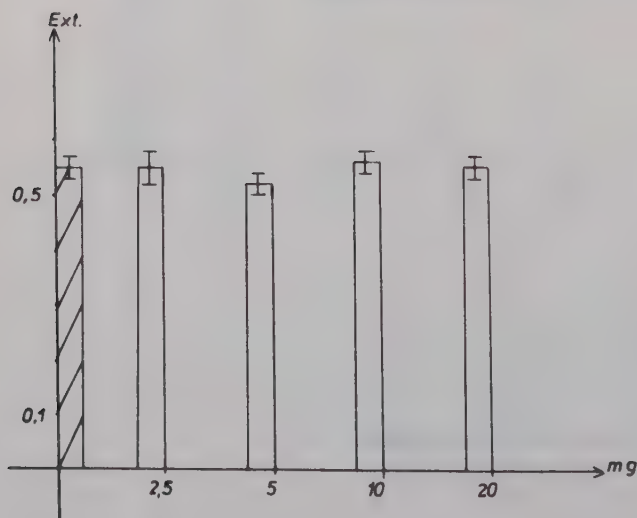


In der Abbildung 2 sind die erhaltenen Werte alle etwas niedriger als der Kontrollwert, ihre Standardabweichungen liegen aber jeweils zu einem Teil innerhalb der Standardabweichung des Kontrollwertes. Ein Nachweis, daß die Enzymaktivität der MAO in vitro durch Äthinylöstradiol in den hier vorliegenden Größenordnungen beeinflußt wird, kann also auch am Lungengewebe nicht geführt werden.

Die Extinktion betrug im einzelnen nach Zugabe von:

	Mittelwert	Standardabweichung
0,0 mg Ä./2 ml Lungenhomogenat	0,33	0,07
2,5 mg Ä./2 ml "	0,29	0,05
5,0 mg Ä./2 ml "	0,26	0,02
10,0 mg Ä./2 ml "	0,30	0,02
20,0 mg Ä./2 ml "	0,24	0,03

Abb. 3: Herz, Ratte ♂ (n = 5), in vitro
MAO-Aktivität unter Äthinylöstradiol

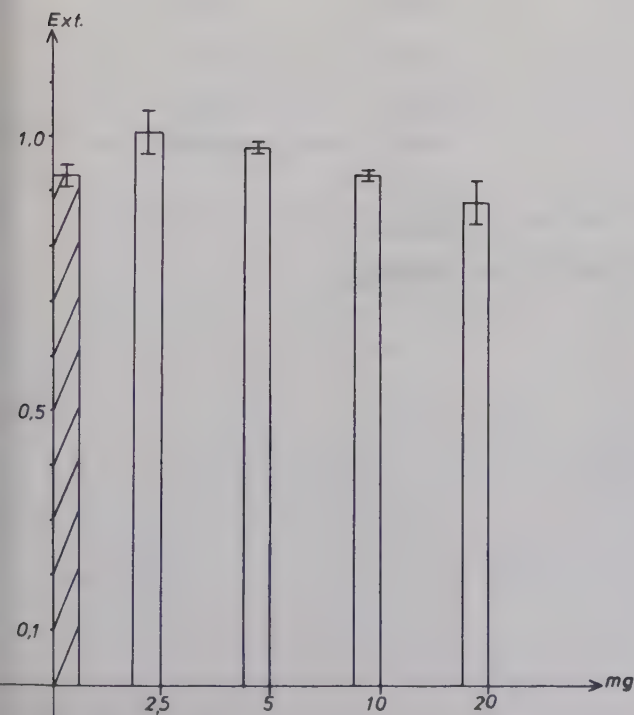


In der Abbildung 3 weichen die erhaltenen Werte nur geringfügig vom Kontrollwert ab, ihre Standardabweichungen liegen alle zu einem großen Teil im Bereich der des Kontrollwertes. Die Enzymaktivität der MAO wird im Herzen in vitro durch Äthinylöstradiol in den hier vorliegenden Größenordnungen ebenfalls nicht beeinflusst.

Die Extinktion betrug im einzelnen nach Zugabe von:

	Mittelwerte	Standardabweichung
0,0 mg Ä./2 ml Herzhomogenat	0,55	0,02
2,5 mg Ä./2 ml "	0,55	0,03
5,0 mg Ä./2 ml "	0,52	0,02
10,0 mg Ä./2 ml "	0,56	0,02
20,0 mg Ä./2 ml "	0,55	0,02

Abb. 4: Leher, Ratte ♂ (n = 5), in vitro
MAO-Aktivität unter Äthinylöstradiol

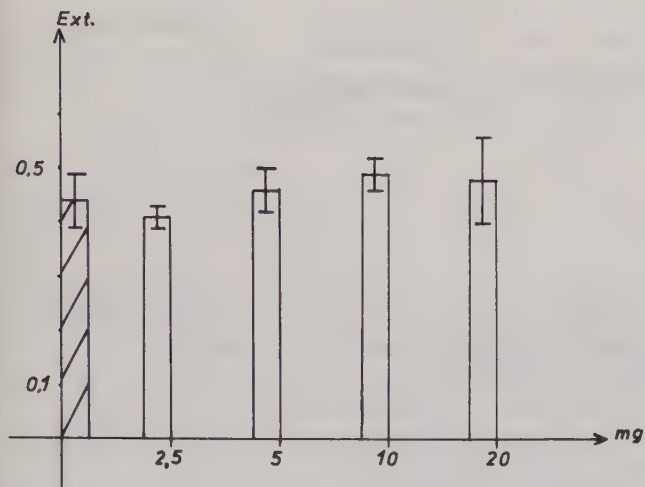


In der Abbildung 4 zeigt sich, daß nach Zugabe von 2,5 mg und 5,0 mg Äthinylöstradiol zu 2 ml Leberhomogenat die erhaltenen Werte höher sind als der Kontrollwert - wobei ihre Standardabweichungen außerhalb des Bereichs der Standardabweichung des Kontrollwertes liegen. Die Zugabe höherer Hormonmengen zu 2 ml Leberhomogenat zeigt aber einen teilweise geringeren Wert im Vergleich zum Kontrollwert; die Standardabweichungen überschneiden sich mit der Standardabweichung des Kontrollwertes. Hier läßt sich also keine Beeinflussung der MAO-Aktivität nachweisen.

Die Extinktion betrug im einzelnen nach Zugabe von:

	Mittelwert	Standardabweichung
0,0 mg Ä./2 ml Leberhomogenat	0,93	0,02
2,5 mg Ä./2 ml "	1,01	0,04
5,0 mg Ä./2 ml "	0,98	0,01
10,0 mg Ä./2 ml "	0,93	0,01
20,0 mg Ä./2 ml "	0,88	0,04

Abb. 5: Niere, Ratte ♂ (n = 5), in vitro
MAO-Aktivität unter Äthinylöstradiol



In der Abbildung 5 sind die so erhaltenen Werte größtenteils höher als der Kontrollwert. Da ihre Standardabweichungen aber zum größten Teil im Bereich der des Kontrollwertes liegen, ergibt sich kein Einfluß auf die Enzymaktivität der MAO in der Niere in vitro durch Äthinvlöstradiol in den hier vorliegenden Größenordnungen.

Die Extinktion betrug im einzelnen nach Zugabe von:

	Mittelwert	Standardabweichung
0,0 mg Ä./2 ml Nierenhomogenat	0,44	0,05
2,5 mg Ä./2 ml "	0,41	0,02
5,0 mg Ä./2 ml "	0,46	0,04
10,0 mg Ä./2 ml "	0,49	0,03
20,0 mg Ä./2 ml "	0,48	0,08

Abb. 6: Milz, Ratte ♂ (n = 5), in vitro

MAO-Aktivität unter Äthinylöstradiol

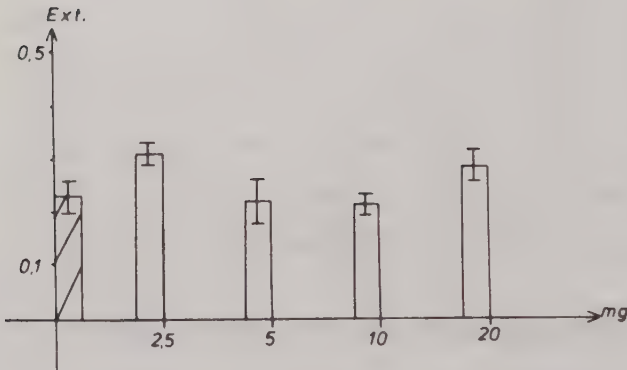


Abbildung 6 zeigt, daß der nach Zugabe von 2,5 mg Äthinylöstradiol zu 2 ml Milzhomogenat erhaltene Werte deutlich höher ist als der Kontrollwert, wobei seine Standardabweichung außerhalb des Bereichs der Standardabweichung des Kontrollwertes liegt. Die Zugabe von 5,0 mg, 10,0 mg und 20,0 mg Äthinylöstradiol zu 2 ml Milzhomogenat führt dagegen nur zu solchen Abweichungen, bei denen die Standardabweichungen noch innerhalb der Standardabweichung des Kontrollwertes liegen. Das bedeutet, daß in diesen Fällen eine Erhöhung der Dosis keine deutlichere Beeinflussung der MAO-Aktivität bewirkte.

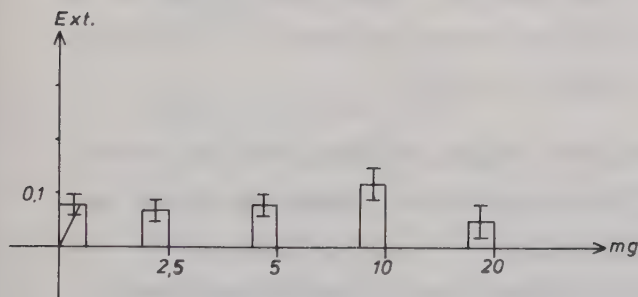
Die Extinktion betrug im einzelnen nach Zugabe von:

	Mittelwert	Standardabweichung
0,0 mg Ä./2 ml Milzhomogenat	0,23	0,03
2,5 mg Ä./2 ml "	0,31	0,02

Fortsetzung:

	Mittelwert	Standardabweichung
5,0 mg Ä./2 ml Milzhomogenat	0,22	0,04
10,0 mg Ä./2 ml "	0,21	0,02
20,0 mg Ä./2 ml "	0,28	0,03

Abb. 7: Hoden, Ratte ♂ (n = 5), in vitro
MAO-Aktivität unter Äthinylöstradiol



In der Abbildung 7 weichen die erhaltenen Werte teilweise vom Kontrollwert ab, ihre Standardabweichungen ragen aber alle in den Bereich der Standardabweichung des Kontrollwertes hinein. Die Enzymaktivität der MAO wird im Hoden *in vitro* durch Äthinylöstradiol in den hier vorliegenden Größenordnungen also nicht beeinflusst.

Die Extinktion betrug im einzelnen nach Zugabe von:

	Mittelwert	Standardabweichung
0,0 mg Ä./2 ml Hodenhomogenat	0,08	0,02
2,5 mg Ä./2 ml "	0,07	0,02

Fortsetzung:

	Mittelwert	Standardabweichung
5,0 mg Ä./2 ml Hodenhomogenat	0,08	0,02
10,0 mg Ä./2 ml "	0,12	0,03
20,0 mg Ä./2 ml "	0,05	0,03

2.3.3. Zusammenfassung der Ergebnisse der in-vitro-Versuche

Eine Beeinflussung der MAO-Aktivität in Hirn, Lunge, Herz, Niere und Hoden bei Zugabe von 2,5 mg, 5,0 mg, 10,0 mg und 20,0 mg Äthinylöstradiol zu 2 ml Organhomogenat findet nicht statt.

Im Leberhomogenat ergibt sich zwar eine leichte Erhöhung der MAO-Aktivität bei Zugabe von 2,5 mg und 5,0 mg Äthinylöstradiol zu 2 ml Organhomogenat, in der Milz eine Erhöhung bei 2,5 mg Äthinylöstradiol, die Unterschiede sind aber so geringfügig, daß sie einer Bestätigung bedürfen, bevor irgendwelche Schlussfolgerungen gerechtfertigt sind.

3. IN - VIVO - KURZZEITVERSUCHE

3.1. Material und Methodik

3.1.1. Herkunft und Art der Ratten

Für die in-vivo-Kurzzeituntersuchungen wurden weibliche Ratten vom Stamm "Wistar AF/Hannover" verwendet. Sie wurden vom Zentralinstitut für Versuchstierzucht in Hannover geliefert und hatten ein Gewicht von ca. 200 g.

3.1.2. Vorbehandlung der Tiere

Bis zum Versuchstag wurden die Tiere unter üblichen Laborbedingungen gehalten (siehe 2.1.2.). Für die Untersuchungen wurden sie folgendermaßen vorbehandelt: 10 Tiere erhielten eine einmalige i. m. Injektion von 8 mg Äthinylöstradiol (in 0,53 ml Rhizinusöl gelöst). Das entspricht 40 mg Äthinylöstradiol pro kg Körpergewicht.

Je 2 Tiere wurden 1/2 Stunde

1 Stunde

2 Stunden

4 Stunden

8 Stunden

nach der Injektion getötet, ihre Organe entnommen und untersucht.

3 Tiere erhielten als Kontrolltiere eine einmalige

i. m. Injektion von 0,64 ml reinem Rhizinusöl.

Je 1 Tier wurde 1 Stunde
 4 Stunden
 7 Stunden

nach der Injektion getötet, die Organe entnommen und untersucht.

Die Injektionen erfolgten intramuskulär in die Hinterbeine der Tiere. Es wurden Tuberkulinspritzen und kurze Kanülen der Größe 2 verwendet.

3.1.3. Tötung und Sektion

Siehe 2.1.3.

3.2. Durchführung der Versuche

3.2.1. Benötigte Substanzen und Reagentien

- a) Untersuchte Organe : Hirn
 Lunge
 Herz
 Leber
 Niere
 Milz
 Ovarien
- b) Hormon : Äthinylöstradiol (siehe 2.2.1.b)
- c) Lösungen : siehe 2.2.1.c)

3.2.2. MAO-Aktivitätsbestimmung

Siehe 2.2.2.

3.2.3. Versuchsablauf

Die präparierten Organe eines jeden Tieres wurden mit einer Schere zerkleinert. Zu einem Teil Organgewebe wurden 3 Teile einer 0,25 mol Rohrzuckerlösung zugegeben. Anschließend wurde mit einem Glashomogenisator mit Teflonstempel nach POTTER - ELVEJHEM homogenisiert. Danach wurden, wenn möglich, pro Organansatz 2 x 7 Reagenzgläser mit je 0,2 ml Homogenat und 2,8 ml Lösungsgemisch beschickt. Siehe weiter 2.2.3.

3.3. Ergebnisse der in-vivo-Kurzzeitversuche

3.3.1. Erklärung der graphischen Darstellungen

Siehe 2.3.1.

3.3.2. Einzelwerte, Mittelwerte, Standardabweichungen

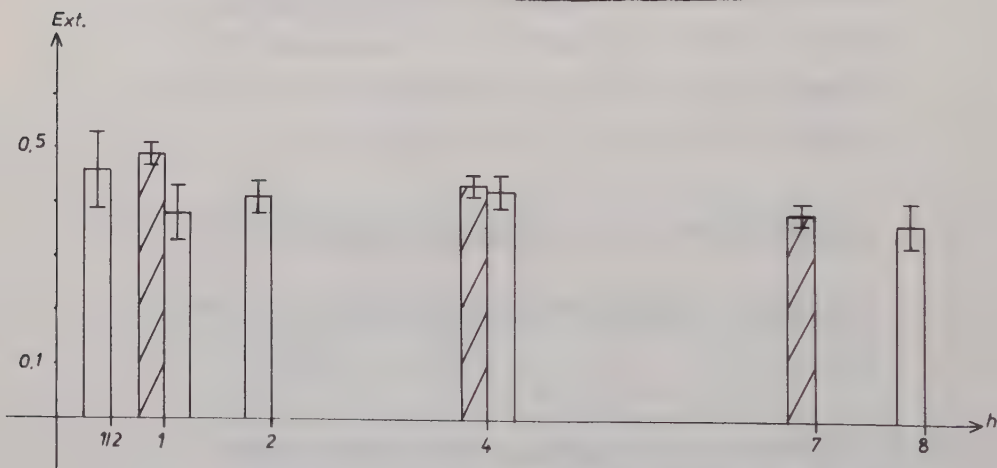
Siehe 2.3.2.

GRAPHISCHE DARSTELLUNGEN

In den Abbildungen 8 bis 14 wird die in-vivo-Wirkung von 40 mg Äthinylöstradiol/kg Körpergewicht auf die MAO-Aktivität der Rattenorgane Hirn, Lunge, Herz, Leber, Niere, Milz und Ovarien gemessen nach fünf verschiedenen Versuchszeiten - dargestellt. Die Kontrolltiere (gestrichelte Säulen) erhielten kein Hormon.

Abb. 8: Hirn, Ratte ♀ (n = 13), in vivo

MAO-Aktivität unter Äthinylöstradiol (40 mg/kg)



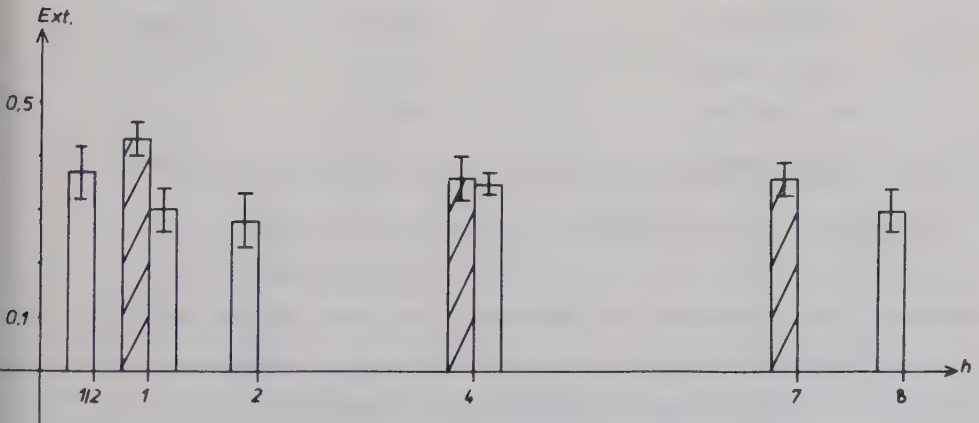
In der Abbildung 8 fallen die Kontrollwerte von 1h über 4h bis zu 7h kontinuierlich leicht ab. Gegenüber dem 1h-Kontrollwert sinkt die MAO-Aktivität der 1h-Tiere ab. Die MAO-Aktivität der 2h-Tiere ist gegenüber dem 1h-Kontrollwert abgesunken, stimmt mit dem 4h-Kontrollwert aber überein. Die MAO-Aktivität der übrigen Tiere stimmt mit den ihnen zugehörigen oder nächstliegenden Kontrollwerten überein.

Die Extinktion betrug im einzelnen:

	Mittelwert	Standardabweichung
a) Kontrolltiere:		
1h - Tier	0,49	0,02
4h - Tier	0,43	0,02
7h - Tier	0,38	0,02
b) Versuchstiere (je 2):		
1/2h - Tiere	0,46	0,07
1h - Tiere	0,38	0,05
2h - Tiere	0,41	0,03
4h - Tiere	0,42	0,04
8h - Tiere	0,36	0,04

Abb. 9: Lunge, Ratte ♀ (n = 13), in vivo

MAO-Aktivität unter Äthinylöstradiol (40 mg/kg)



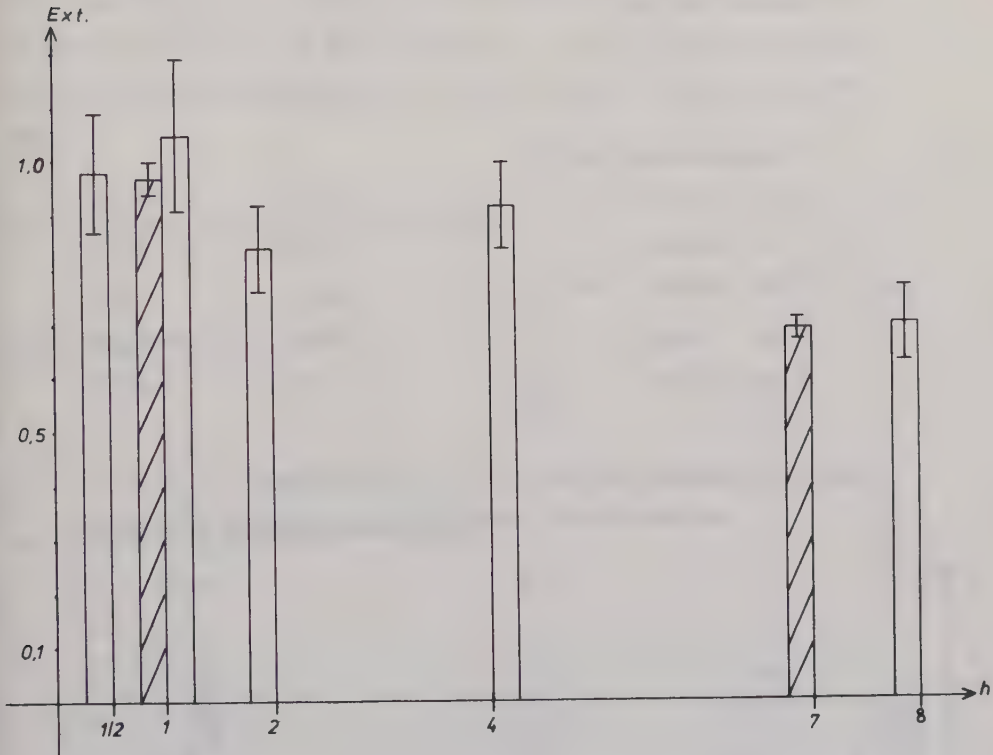
Auch in der Abbildung 9 zeigt sich, daß der Kontrollwert von 1h über 4h bis zu 7h geringfügig abfällt. Gegenüber dem 1h-Kontrollwert sinkt die MAO-Aktivität der 1h-Tiere ab. Die MAO-Aktivität der 2h-Tiere ist gegenüber dem 1h-Kontrollwert abgesunken und stimmt mit dem 4h-Kontrollwert überein. Die MAO-Aktivität der übrigen Tiere stimmt mit den ihnen zugehörigen oder nächstliegenden Kontrollwerten überein.

Die Extinktion betrug im einzelnen:

	Mittelwert	Standardabweichung
a) Kontrolltiere:		
1h - Tier	0,43	0,03
4h - Tier	0,36	0,04
7h - Tier	0,36	0,03
b) Versuchstiere (je 2):		
1/2h - Tiere	0,37	0,05
1h - Tiere	0,30	0,04
2h - Tiere	0,28	0,05
4h - Tiere	0,35	0,02
8h - Tiere	0,30	0,04

Abb. 10: Herz, Ratte ♀ (n = 12), in vivo

MAO-Aktivität unter Äthinylöstradiol (40 mg/kg)



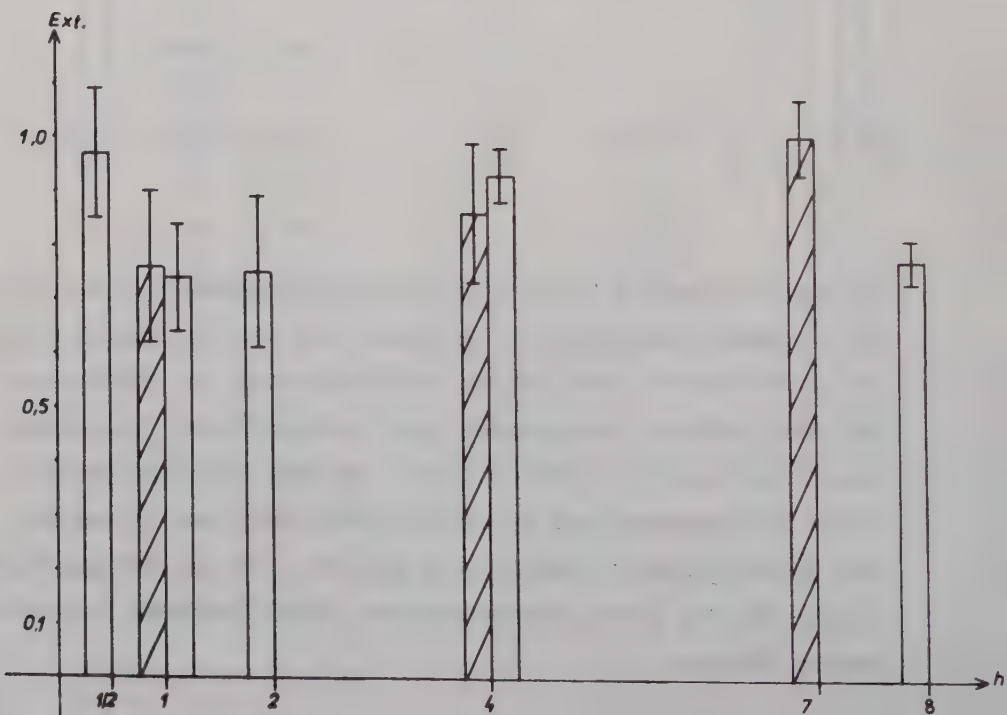
In der Abbildung 10 fällt der Kontrollwert ebenfalls von 1 h b
7h - diesmal deutlich - ab. Gegenüber dem 1h-Kontrollwert zeig
die MAO-Aktivität der 1h-Tiere keine Änderung. Die MAO-Aktivi-
tät der 2h-Tiere ist gegenüber dem 1h-Kontrollwert abgesunken,
aber höher als der 7h-Kontrollwert. Die MAO-Aktivität der 4h-
Tiere ist gegenüber dem 7h-Kontrollwert erhöht und stimmt mit
dem 1h-Kontrollwert überein. Die MAO-Aktivität der übrigen Tie
stimmt mit den ihnen zugehörigen oder nächstliegenden Kontroll
werten überein.

Die Extinktion betrug im einzelnen:

	Mittelwert	Standardabweichung
a) Kontrolltiere:		
1h - Tier	0,97	0,03
7h - Tier	0,69	0,02
b) Versuchstiere (je 2):		
1/2h - Tiere	0,98	0,11
1h - Tiere	1,05	0,14
2h - Tiere	0,84	0,08
4h - Tiere	0,92	0,08
8h - Tiere	0,70	0,07

Abb. 11: Leber, Ratte ♀ (n = 13), in vivo

MAO-Aktivität unter Äthinylöstradiol (40 mg/kg)



In der Abbildung 11 ergibt sich eine Überraschung:

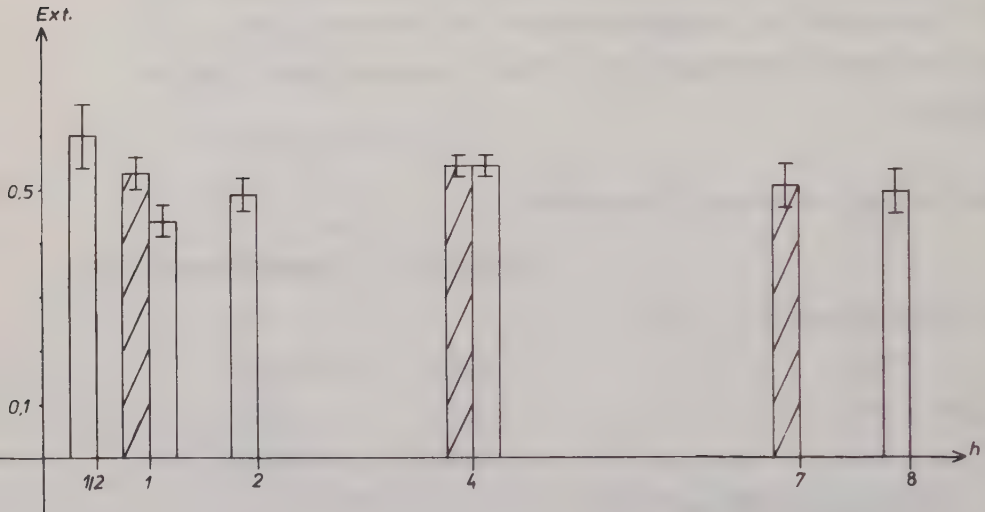
Der Kontrollwert steigt von 1h über 4h bis zu 7h kontinuierlich an! Gegenüber dem 7h-Kontrollwert sinkt die MAO-Aktivität der 8h-Tiere stark ab. Die MAO-Aktivität der übrigen Tiere stimmt mit den ihnen zugehörigen oder nächstliegenden Kontrollwerten überein.

Die Extinktion betrug im einzelnen:

	Mittelwert	Standardabweichung
a) Kontrolltiere:		
1h - Tier	0,76	0,14
4h - Tier	0,91	0,03
7h - Tier	1,00	0,07
b) Versuchstiere (je 2):		
1/2h - Tiere	0,97	0,12
1h - Tiere	0,74	0,10
2h - Tiere	0,75	0,14
4h - Tiere	0,93	0,05
8h - Tiere	0,77	0,04

Abb. 12: Niere, Ratte ♀ (n = 13), in vivo

MAO-Aktivität unter Äthinylöstradiol (40 mg/kg)



In der Abbildung 12 bleibt der Kontrollwert von 1h über 4h bis 7h praktisch konstant. Gegenüber dem 1h-Kontrollwert sinkt die MAO-Aktivität der 1h-Tiere ab. Die MAO-Aktivität der übrigen Tiere stimmt mit den ihnen zugehörigen oder nächstliegenden Kontrollwerten überein.

Die Extinktion betrug im einzelnen:

	Mittelwert	Standardabweichung
a) Kontrolltiere:		
1h - Tier	0,53	0,03
4h - Tier	0,54	0,02
7h - Tier	0,50	0,04

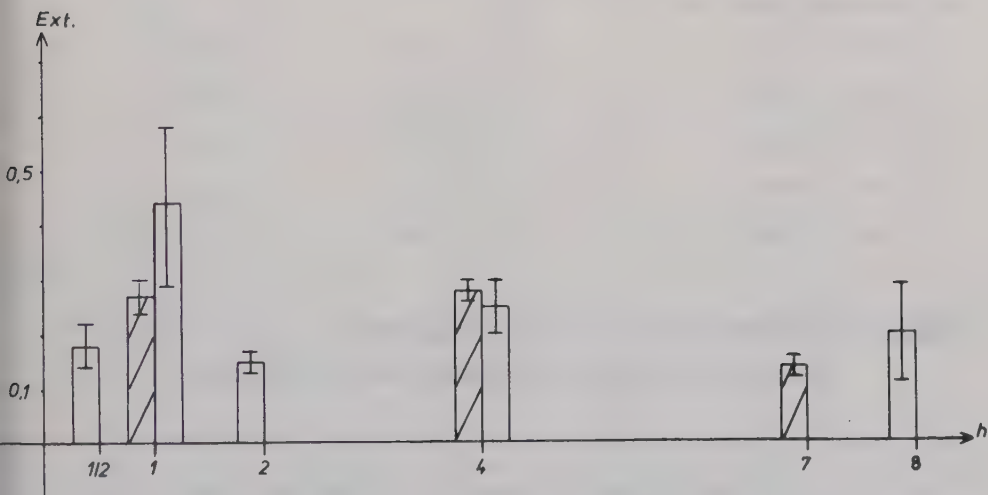
Fortsetzung:

b) Versuchstiere (je 2):

	Mittelwert	Standardabweichung
1/2h - Tiere	0,60	0,06
1h - Tiere	0,44	0,03
2h - Tiere	0,49	0,03
4h - Tiere	0,54	0,02
8h - Tiere	0,49	0,04

Abb. 13: Milz, Ratte ♀ (n = 13), in vivo

MAO-Aktivität unter Äthinylöstradiol (40 mg/kg)



In der Abbildung 13 zeigt sich, daß der Kontrollwert von 1h bis 4h konstant bleibt, dann bis 7h abfällt. Die MAO-Aktivität der 1/2h-Tiere ist gegenüber dem 1h-Kontrollwert verringert, wohingegen die 1h-Tiere mit ihm übereinstimmen. Die MAO-Aktivität

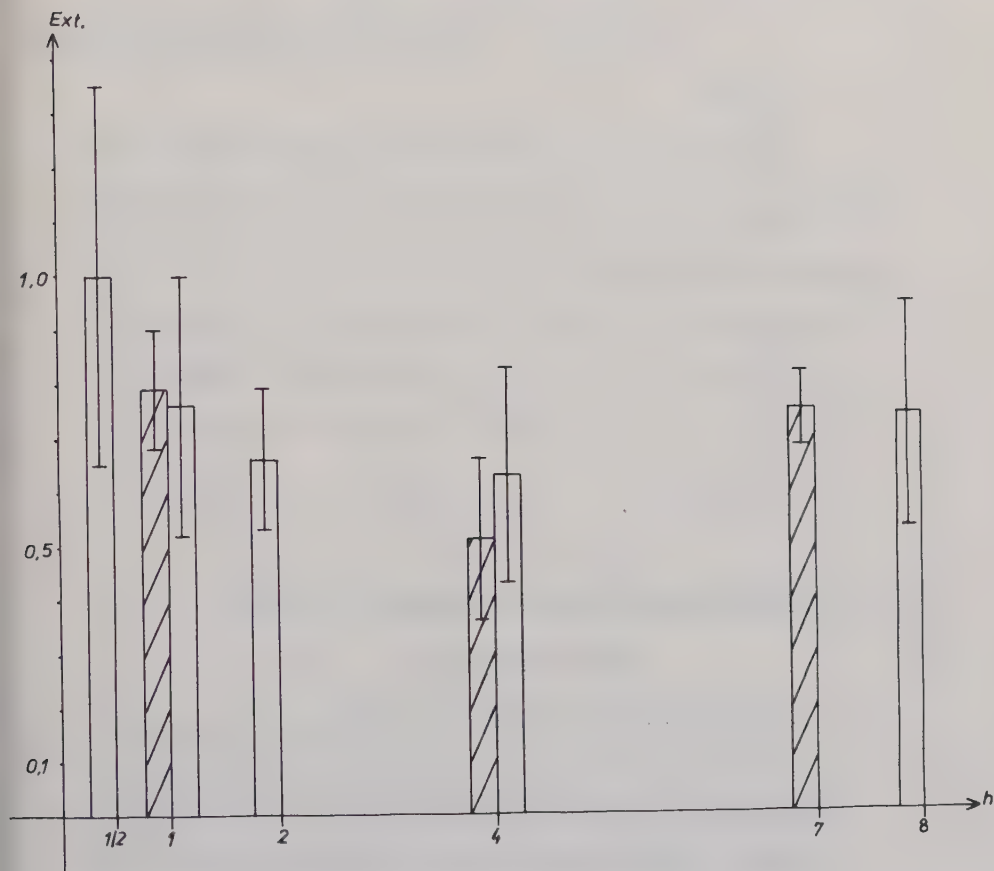
tät der 2h-Tiere ist gegenüber dem 1h- und 4h-Kontrollwert verringert. Die MAO-Aktivität der übrigen Tiere stimmt mit den ihnen zugehörigen oder nächstliegenden Kontrollwerten überein.

Die Extinktion betrug im einzelnen:

	Mittelwert	Standardabweichung
a) Kontrolltiere:		
1h - Tier	0,27	0,03
4h - Tier	0,28	0,02
7h - Tier	0,14	0,02
b) Versuchstiere (je 2):		
1/2h - Tiere	0,18	0,04
1h - Tiere	0,44	0,15
2h - Tiere	0,15	0,02
4h - Tiere	0,25	0,05
8h - Tiere	0,20	0,09

Abb. 14: Ovarien, Ratte ♀ (n = 13) in vivo

MAO-Aktivität unter Äthinylöstradiol (40 mg/kg)



In der Abbildung 14 stimmen die Kontrollwerte von 1h und 7h überein. Dagegen zeigt sich eine Verringerung des Kontrollwertes bei 4h. Die MAO-Aktivität der Versuchstiere verhält sich analog und stimmt mit den ihnen zugehörigen oder nächstliegenden Kontrollwerten überein.

Die Extinktion betrug im einzelnen:

	Mittelwert	Standardabweichung
a) Kontrolltiere:		
1h - Tier	0,79	0,11
4h - Tier	0,51	0,15
7h - Tier	0,75	0,07
b) Versuchstiere (je 2):		
1/2h - Tiere	1,00	0,35
1h - Tiere	0,76	0,24
2h - Tiere	0,66	0,13
4h - Tiere	0,63	0,20
8h - Tiere	0,74	0,21

3.3.3. Zusammenfassung der Ergebnisse der in-vivo-

Kurzzeitversuche

Auffällig ist der Abfall der MAO-Aktivität in Hirn, Lunge, Herz und Milz der Kontrolltiere über den Zeitraum von 1h bis 7h nach Injektion von 0,64 ml Rhizinusöl. In der Leber steigt die MAO-Aktivität dagegen an, in der Niere bleibt sie konstant; in den Ovarien zeigt sich nach 4h eine Erniedrigung der MAO-Aktivität im Vergleich zu den 1h- und 7h-Kontrolltieren. Da für die Kontrollversuche jeweils nur ein Tier zur Verfügung stand, sind Schwankungen um die jeweiligen Werte möglich.

Der Einfluß von Äthinylöstradiol auf die MAO-Aktivität ist während eines Zeitraumes von 1/2 - 8 Stunden in den verschiedenen Organen unterschiedlich.

Eine Hemmung der Enzymaktivität ist in Hirn, Lunge und Niere nach 1 Stunde meßbar. Nach 4 Stunden stimmen die Kontrollwerte und die MAO-Aktivität der Versuchstiere dann wieder überein. In der Milz zeigt sich eine Hemmung nach 1/2 und nach 2 Stunden, in der Leber nach 8 Stunden. In Herz und Ovarien ließ sich ein Einfluß von Äthinylöstradiol auf die MAO-Aktivität dagegen nicht nachweisen.

4. IN - VIVO - LANGZEITVERSUCHE

4.1. Material und Methodik

4.1.1. Herkunft und Art der Ratten

Für die in-vivo-Langzeituntersuchungen wurden im Institut gezogene, weibliche Ratten eines Stammes unbekannter Herkunft verwendet. Das Gewicht dieser Tiere schwankte zwischen minimal 250 g und maximal 300 g.

4.1.2. Vorbehandlung der Tiere

Bis zum Versuchstag wurden die Tiere unter üblichen Laborbedingungen gehalten (siehe 2.1.2.).

Den Untersuchungen ging dann folgende Vorbehandlung voraus:

a) Vorversuch zum in-vivo-Langzeitversuch

3 Tiere zu 250 g erhielten einmalig eine i. m. Injektion von 5 mg Äthinylöstradiol, in 0,33 ml Rhizinusöl gelöst. Das entspricht 20 mg Äthinylöstradiol/kg Körpergewicht.

1 Tier zu 250 g erhielt eine einmalige Injektion von 0,4 ml reinem Rhizinusöl.

b) in-vivo-Langzeitversuch

Je 2 Tiere erhielten täglich 10 mg Äthinylöstradiol pro kg Körpergewicht, gelöst in Rhizinusöl, über

einen Zeitraum von 3 Tagen
 6 Tagen
 12 Tagen
 24 Tagen

i. m. injiziert.

Entsprechend erhielten die 250 g Tiere 2,5 mg Ä.
in 0,16 ml Rhizinusöl, die 300 g Tiere 3,0 mg Ä.
in 0,2 ml Rhizinusöl.

Je 1 Tier erhielt täglich eine i. m. Injektion von
0,2 ml reinem Rhizinusöl über 6 Tage
 13 Tage

Die Injektionen wurden täglich zur gleichen Zeit
verabreicht. Sie erfolgten intramuskulär (siehe
3.1.2.). Die Tiere wurden eine Stunde nach der letz-
ten Injektion getötet.

4.1.3. Tötung und Sektion

Siehe 2.1.3.

4.2. Durchführung der Versuche

Siehe 3.2.1.

3.2.2.

3.2.3.

4.3. Ergebnisse der in-vivo-Langzeitversuche

4.3.1. Erklärung der graphischen Darstellungen

Siehe 3.3.1.

4.3.2. Einzelwerte, Mittelwerte, Standardabweichungen

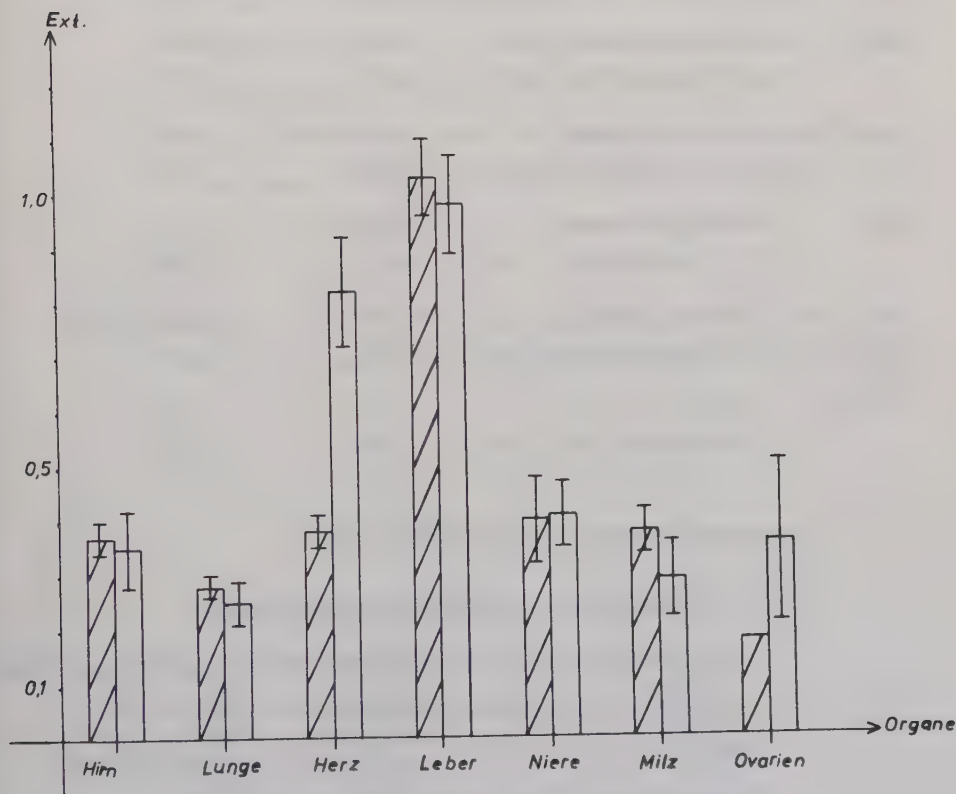
Siehe 3.3.2.

GRAPHISCHE DARSTELLUNGEN

a) Vorversuch zum in-vivo-Langzeitversuch:

Abb. 15: 7 Organe, Ratte ♀ (n = 4), in vivo

MAO-Aktivität unter Äthinylöstradiol (20 mg/kg)



In dieser Abbildung ist die Wirkung von 20 mg Äthinyl-
östradiol/kg Körpergewicht auf die MAO-Aktivität von
7 Rattenorganen, gemessen nach einer Stunde, erkennbar.
Die Werte für die Ovarien wurden später, entsprechend
ihrer jeweiligen Verdünnung, umgerechnet.

Die Extinktionswerte betrugen im einzelnen:

		Mittelwert	Standardabweichung
Hirn	a) Kontrolltier:	0,37	0,03
	b) Versuchstiere (je 3):	0,35	0,07
Lunge	a) Kontrolltier:	0,28	0,02
	b) Versuchstiere (je 3):	0,25	0,04
Herz	a) Kontrolltier:	0,38	0,03
	b) Versuchstiere (je 3):	0,82	0,10
Leber	a) Kontrolltier:	1,03	0,07
	b) Versuchstiere (je 3):	0,98	0,09
Niere	a) Kontrolltier:	0,40	0,08
	b) Versuchstiere (je 3):	0,41	0,06
Milz	a) Kontrolltier:	0,38	0,04
	b) Versuchstiere (je 3):	0,29	0,07
Ovarien:	a) Kontrolltier:	0,18	0,00
	b) Versuchstiere (je 3):	0,36	0,15

4.3.3. Zusammenfassung der Ergebnisse der

a) Vorversuche der in-vivo-Langzeitversuche

Eine Stunde nach Verabreichung von 20 mg Äthinylöstradiol/kg Körpergewicht findet sich in den Rattenorganen Hirn, Lunge, Leber, Niere, Milz und Ovarien - auch wenn bei den Ovarien zu berücksichtigen ist, daß von dem Kontrolltier nur ein Wert erhalten wurde - kein Einfluß auf die MAO-Aktivität.

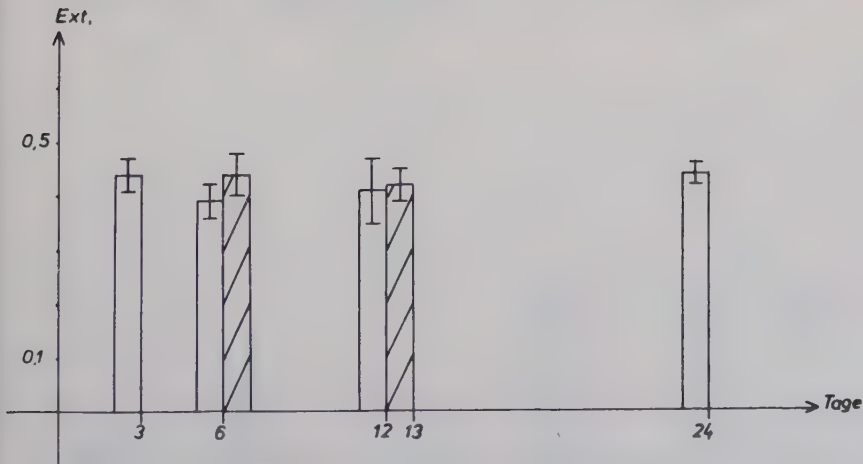
Eine Ausnahme zeigt sich beim Herzen: Nach einer Stunde findet sich hier eine Erhöhung der MAO-Aktivität um ca. 100 %.

b) in-vivo-Langzeitversuch:

In den Abbildungen 16 bis 22 wird die in-vivo-Wirkung von Äthinylöstradiol auf die MAO-Aktivität der Rattenorgane Hirn, Lunge, Herz, Leber, Niere, Milz und Ovarien dargestellt. Die Tiere wurden 3, 6, 12 und 24 Tage mit jeweils 10 mg Äthinylöstradiol/kg Körpergewicht vorbehandelt. Die Kontrolltiere (gestrichelte Säulen) erhielten kein Hormon.

Abb. 16: Hirn, Ratte ♀ (n = 10), in vivo (3 - 24 Tage)

MAO-Aktivität unter Äthinylöstradiol (10 mg/kg/Tag)

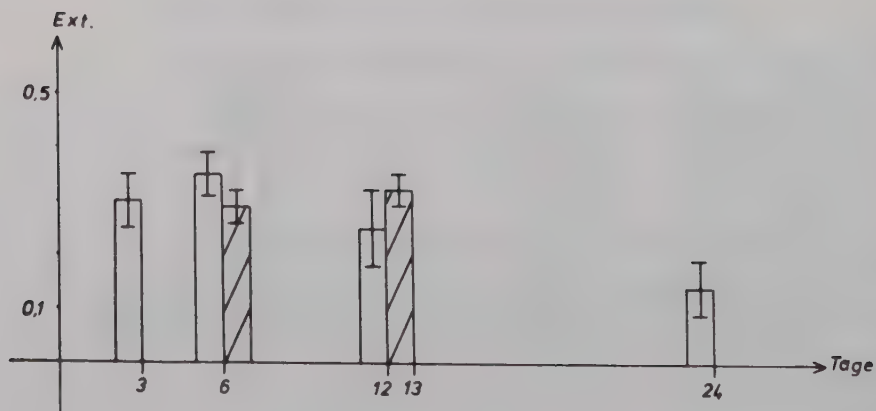


Die Abbildung 16 zeigt, daß die MAO-Aktivität der Versuchstiere mit den 6- und 13-Tage-Kontrollwerten über die gesamte Versuchsdauer übereinstimmt.

Die Extinktion betrug im einzelnen:

	Mittelwert	Standardabweichung
Kontrolltiere:		
6 - Tage - Tier	0,44	0,04
13 - Tage - Tier	0,42	0,03
Versuchstiere (je 2):		
3 - Tage - Tiere	0,44	0,03
6 - Tage - Tiere	0,40	0,03
12 - Tage - Tiere	0,41	0,06
24 - Tage - Tiere	0,44	0,02

Abb. 17: Lunge, Ratte ♀ (n = 10), in vivo (3 - 24 Tage)
MAO-Aktivität unter Äthinylöstradiol (10 mg/kg/Tag)

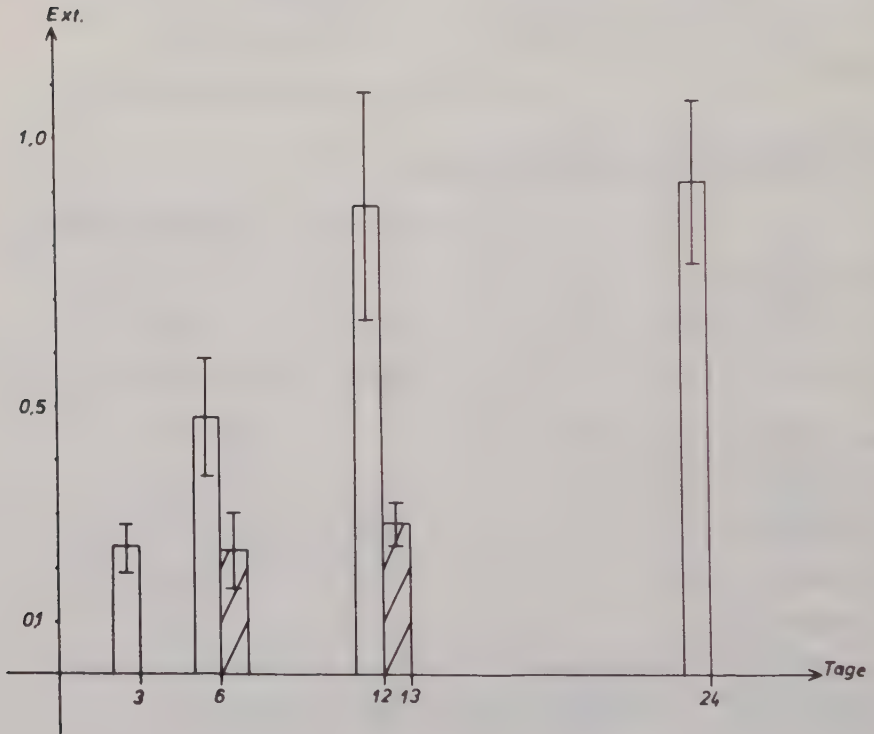


In der Abbildung 17 erkennt man, daß die MAO-Aktivität der Versuchstiere bis zum 12. Tag mit den 6- und 13-Tage-Kontrollwerten übereinstimmt. Die MAO-Aktivität der 24-Tage-Tiere ist gegenüber den Kontrollwerten abgesunken.

Die Extinktion betrug im einzelnen:

	Mittelwert	Standardabweichung
Kontrolltiere:		
6 - Tage - Tier	0,29	0,03
13 - Tage - Tier	0,32	0,03
Versuchstiere (je 2):		
3 - Tage - Tiere	0,30	0,05
6 - Tage - Tiere	0,35	0,04
12 - Tage - Tiere	0,25	0,07
24 - Tage - Tiere	0,14	0,05

Abb. 18: Herz, Ratte ♀ (n = 10), in vivo (3 - 24 Tage)
MAO-Aktivität unter Äthinylöstradiol (10 mg/kg/Tag)



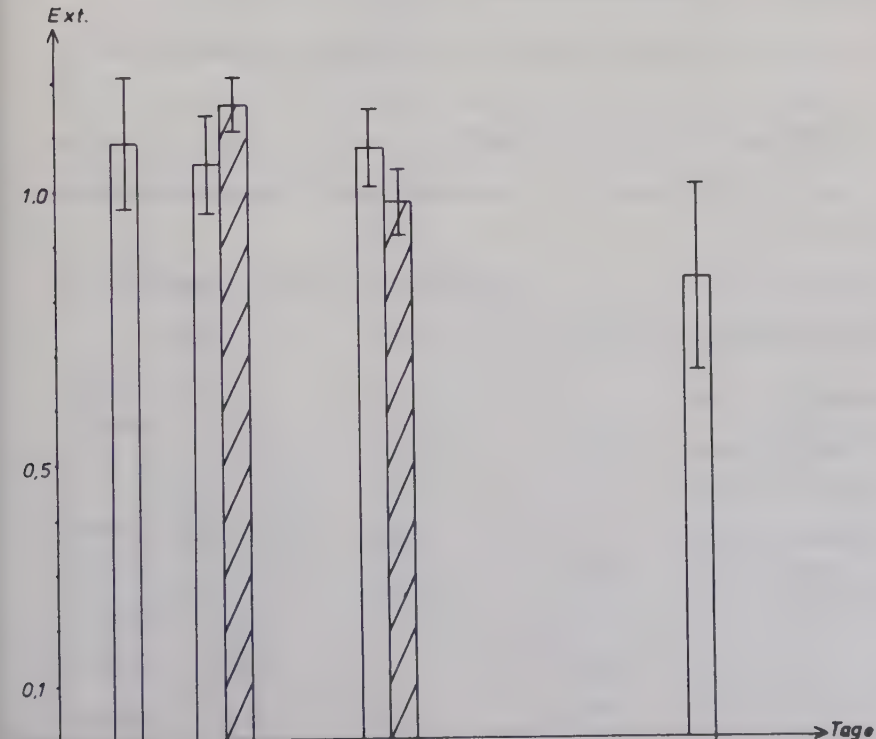
In der Abbildung 18 stimmt die MAO-Aktivität der 3-Tage-Tiere mit den 6- und 13-Tage-Kontrollwerten überein. Nach 6 Tagen zeigt sich ein Anstieg der MAO-Aktivität um fast 100 %, nach 12 Tagen erreicht sie ungefähr das 3-fache des 13-Tage-Kontrollwertes. Die MAO-Aktivität nach 24 Tagen entspricht der nach 12 Tagen.

Die Extinktion betrug im einzelnen:

	Mittelwert	Standardabweichung
Kontrolltiere:		
6 - Tage - Tier	0,23	0,07
13 - Tage - Tier	0,28	0,04
Versuchstiere (je 2):		
3 - Tage - Tiere	0,25	0,05
6 - Tage - Tiere	0,48	0,11
12 - Tage - Tiere	0,87	0,21
24 - Tage - Tiere	0,91	0,15

Abb. 19: Leber, Ratte ♀ (n = 10), in vivo (3 - 24 Tage)

MAO-Aktivität unter Äthinylöstradiol (10 mg/kg/Tag)

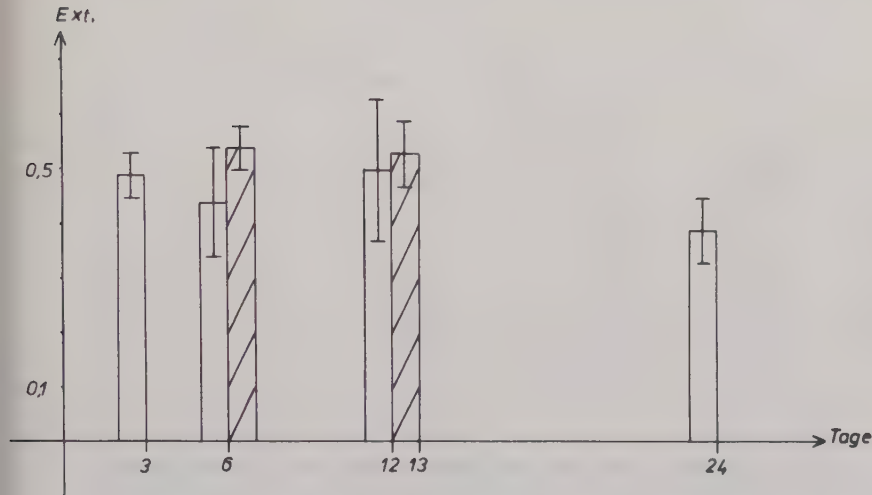


In der Abbildung 19 hat das 13-Tage-Kontrolltier gegenüber dem 6-Tage-Kontrolltier eine geringere MAO-Aktivität. Hier zeigt sich deutlich die Möglichkeit individueller Schwankungen: Für jeden Kontrollwert stand nämlich nur ein Tier zur Verfügung. Trotzdem stimmt die MAO-Aktivität der Versuchstiere mit den 6- und 13-Tage-Kontrollwerten über die gesamte Versuchsdauer überein. Bei den 24-Tage-Tieren zeigte ein Tier mit einem Wert von 1,0 gute Übereinstimmung mit den Kontrollwerten, wohingegen das 2. Tier mit einem Wert von 0,68 stark abfiel. Die Leber dieses Tieres war leicht geschrumpft und sah gelblich verfärbt aus. Da die übrigen Organwerte dieses Tieres mit denen des 1. 24-Tage-Tieres sonst übereinstimmen, ist eine Beeinflussung der Leber-MAO-Aktivität durch eine (von uns nicht diagnostizierbare) Erkrankung anzunehmen.

Die Extinktion betrug im einzelnen:

	Mittelwert	Standardabweichung
Kontrolltiere:		
6 - Tage - Tier	1,16	0,05
13 - Tage - Tier	0,98	0,06
Versuchstiere (je 2):		
3 - Tage - Tiere	1,09	0,12
6 - Tage - Tiere	1,05	0,09
12 - Tage - Tiere	1,08	0,07
24 - Tage - Tiere	0,84	0,17

Abb. 20: Niere, Ratte ♀ (n = 10), in vivo (3 - 24 Tage)
MAO-Aktivität unter Äthinylöstradiol (10 mg/kg/Tag)



In der Abbildung 20 zeigt sich, daß die MAO-Aktivität der Versuchstiere bis zum 12. Tag mit den 6- und 13-Tage-Kontrollwerten übereinstimmt. Die 24-Tage-Tiere zeigen gegenüber den Kontrollwerten eine geringere MAO-Aktivität.

Die Extinktion betrug im einzelnen:

	Mittelwert	Standardabweichung
Kontrolltiere:		
6 Tage - Tier	0,54	0,04
13 Tage - Tier	0,53	0,06
Versuchstiere (je 2):		
3 Tage - Tiere	0,49	0,04
6 Tage - Tiere	0,44	0,10
12 Tage - Tiere	0,50	0,13
24 Tage - Tiere	0,39	0,06

Abb. 21: Milz, Ratte ♀ (n = 7), in vivo (3 - 24 Tage)
MAO-Aktivität unter Äthinylöstradiol (10 mg/kg/Tag)

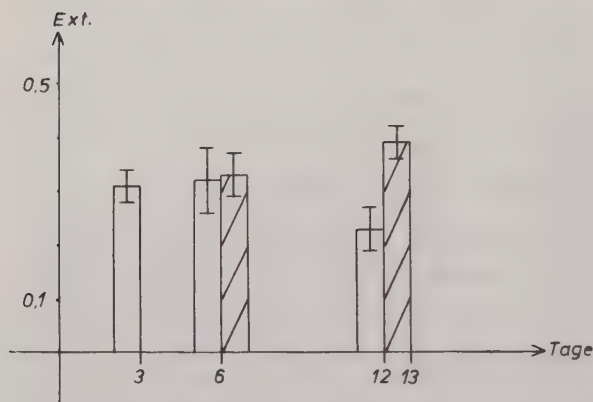
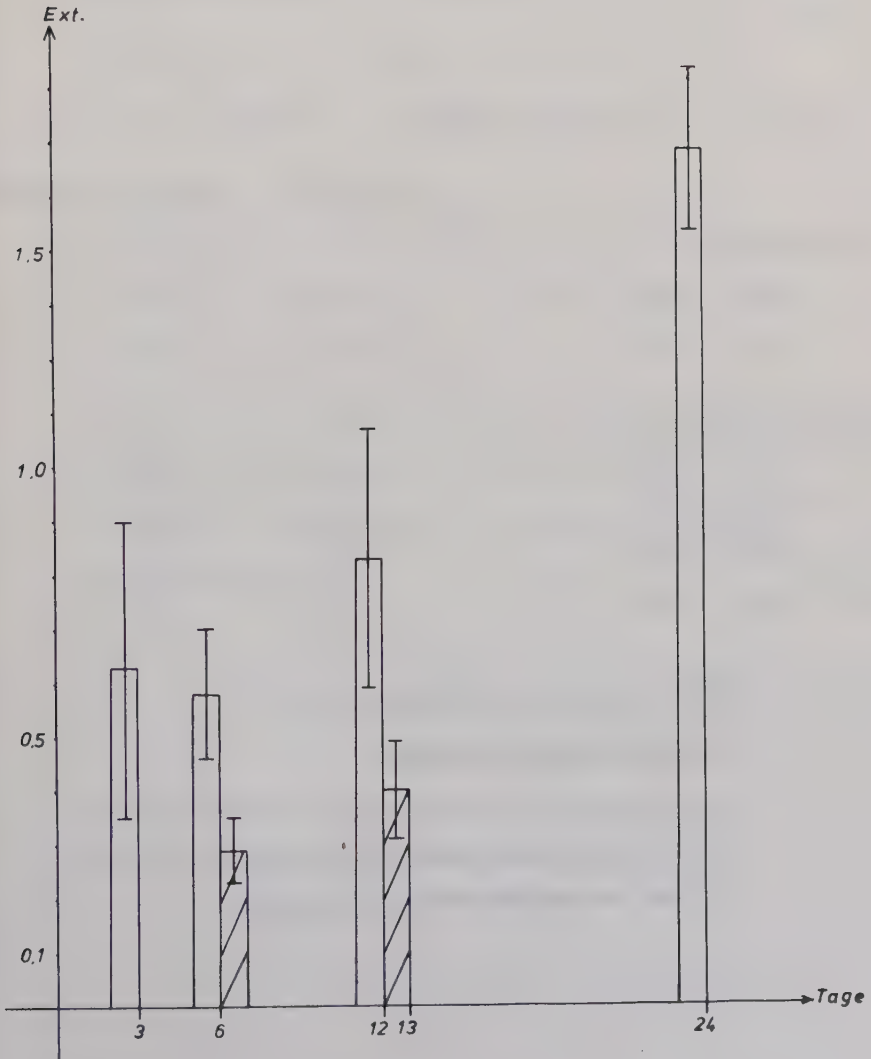


Abbildung 21 zeigt, daß die MAO-Aktivität der 3-Tage-Tiere mit dem 6-, die der 6-Tage-Tiere mit dem 6- und 13-Tage-Kontrollwerten übereinstimmt. Das 12-Tage-Tier zeigt dagegen deutlich eine niedrigere MAO-Aktivität.

Die Extinktion betrug im einzelnen:

	Mittelwert	Standardabweichung
Kontrolltiere:		
6 - Tage - Tier	0,33	0,04
13 - Tage - Tier	0,39	0,03
Versuchstiere (je 2):		
3 - Tage - Tiere	0,31	0,03
6 - Tage - Tiere	0,32	0,06
12 - Tage - Tiere	0,23	0,04

Abb. 22: Ovarien, Ratte ♀ (n = 10), in vivo (3 - 24 Tage)
MAO-Aktivität unter Äthinylöstradiol (10 mg/kg/Tag)



In der Abbildung 22 stimmt die MAO-Aktivität der 3-Tage-Tiere mit den 6- und 13-Tage-Kontrollwerten noch überein. Am 6. und 12. Tag ist sie ca. 100 % höher als der jeweils dazugehörige Kontrollwert. Am 24. Tag ergibt sich ein nahezu 4-fach höherer Wert bezüglich des 13-Tage-Kontrollwertes.

Die Extinktion betrug im einzelnen:

	Mittelwert	Standardabweichung
Kontrolltiere:		
6 - Tage - Tier	0,29	0,06
13 - Tage - Tier	0,40	0,09
Versuchstiere (je 2):		
3 - Tage - Tiere	0,63	0,28
6 - Tage - Tiere	0,58	0,12
12 - Tage - Tiere	0,83	0,24
24 - Tage - Tiere	1,59	0,15

4.3.3. Zusammenfassung der Ergebnisse der

b) in-vivo-Langzeitversuche

Auch hier zeigt sich ein unterschiedlicher Einfluß von Äthinylöstradiol auf die MAO-Aktivität in den verschiedenen Rattenorganen.

Während im Hirn und in der Leber jede erkennbare Beeinflussung fehlt, steigt im Herzen die MAO-Aktivität am 6. Tag auf das Doppelte des 6-Tage-, am 12. Tag auf das 3-fache des 13-Tage-Kontrollwertes an. Bis zum 24. Tag bleibt der Wert dann konstant. Im Vorversuch kam es, bei der doppelten Menge Hormonen, schon nach einer Stunde zu einer Verdoppelung der Herzwerte.

In den Ovarien findet ebenfalls eine starke Erhöhung der MAO-Aktivität statt, die sich bis zum 24. Tag auf das 4-fache der Kontrollwerte steigert.

Zu einer Hemmung der MAO-Aktivität durch Äthynylöstradiol kommt es in Lunge und Niere (Abfall der 24-Tage-Werte gegenüber den Kontrollwerten), und in der Milz (Abfall des 12-Tage-Wertes gegenüber den Kontrollwerten).

5. DISKUSSION

5.1. Einfluß des Alters auf die MAO-Aktivität

Schwankungen der MAO-Aktivität, die im Laufe des Lebens bei Ratten auftraten, hatten schon 1967 PRANGE, WHITE u. a. beschrieben. Dabei hatte sich mit steigendem Alter der Versuchstiere auch eine Zunahme der MAO-Aktivität im Herzen gezeigt, während sie im Gehirn bei allen Altersgruppen konstant geblieben war. Bestätigt wurden diese Ergebnisse durch Untersuchungen über die Altersabhängigkeit der MAO-Aktivität bei Ratten durch SCHABER (1974), der in den verschiedenen Organen eine Zunahme der MAO-Aktivität bis zum Eintritt der Geschlechtsreife feststellte, die sich danach nur noch im Herzen fortsetzte, wohingegen alle anderen Organe dann einen konstanten Wert zeigten.

Auch beim Menschen gibt es altersabhängige Schwankungen, wie unter anderem FREICKMANN(1974) durch Versuche mit Gehirnmateriel von Patienten, die zwischen 46 und 78 Jahren alt waren, bewies.

Aus diesem Grund wählten wir für die jeweiligen Versuche geschlechtsreife Tiere gleichen Alters.

5.2. Einfluß des Geschlechts auf die MAO-Aktivität

1967 fanden LEMAY und BERLINGUET bei ihren Untersuchungen teilweise starke Unterschiede bei einzelnen Organen zwischen männlichen und weiblichen Ratten. So war die MAO-Aktivität bei weiblichen Ratten im Herzen um 37 % und in der Leber um 16 % niedriger als bei männlichen. STRAEHLER-POHL zeigte 1975 an Hunden ebenso geschlechtszugehörige Unterschiede wie FREICKMANN beim Menschen, der 1974 feststellte, daß die Aktivität der MAO in Gehirnen von weiblichen Patienten um 5 bis 18 % höher lag als im Gehirn von männlichen Patienten. Deshalb nahmen wir für die jeweiligen Versuchsserien nur Tiere desselben Geschlechts.

5.3. Topographische Unterschiede

Unterschiede hinsichtlich der Aktivität der MAO in den verschiedenen Hirnregionen hatten schon 1960 WEISS-BACH und UDENFRIEND als auch WEINER beschrieben. Bestätigt wurden diese Ergebnisse von FREICKMANN (1974), HERZ (1974) OEPEN und SCHNEIDER (1974), die beim Menschen bzw. beim Hund Untersuchungen an verschiedenen Hirnteilen durchgeführt hatten. Vermutungen, daß Unterschiede in der MAO-Aktivität auch in den verschiedenen Körperorganen bestünden, wurden durch Untersuchungen von KAMBERI und KOBAYASHI (1970)

REH (1973), SCHNEIDER (1974), SCHARER (1975) und STRÄHNER-POHL (1975) an Ratten, Hunden und Menschen zur Gewißheit.

5.4. Stammesspezifische Unterschiede bei Ratten

OEPFEN und SCHNEIDER fanden 1974 nicht nur soziespezifische Differenzen, sondern auch, daß Rattenorgane von Tieren unterschiedlicher Stämme eine voneinander abweichende MAO-Aktivität zeigen. Bei unseren Untersuchungen ergaben sich ebenfalls zwischen den Ratten einzelner Stämme Unterschiede, die beim Herzen am deutlichsten ausfielen.

5.5. Beeinflussung der MAO-Aktivität durch Sexualhormone

ZOLOVICK, PEARSE, BOEHKE und FLEETHERIOU hatten 1966 festgestellt, daß die MAO-Aktivität im Rattenhirn während des Östruszyklus schwankt. SAISEDUC, JOFRE und TZOUTERDO wiesen auf einen starken Anstieg der MAO-Aktivität in verschiedenen Hirnregionen der Ratte während des Östrus hin; ebenso KAMBERT und KOBAYASHI (1970), die im Hypothalamus von Ratten während des Östrus ein Aktivitätsmaximum und im Diöstrus ein Aktivitätsminimum beobachteten. Daß Nebennierenrindenhormone einen Einfluß auf die Aktivität der MAO haben, wurde von H. PARVEZ und S. PARVEZ (1973) bestätigt, die in ihren Versuchen Ratten die Nebennieren entfernten. Daraufhin stieg

die MAO-Aktivität im Gehirn an; sie konnte durch Gaben von Steroidhormonen wieder gehemmt werden. Auch beim Menschen ist ein Einfluß von Steroidhormonen auf die MAO-Aktivität festzustellen: KLAIBER, BROVERMAN und KOBAYASHI zeigten 1972, daß die Plasma-MAO-Aktivität bei Frauen während der Ovulation am geringsten ist.

Nach Behandlung mit Testosteron beschrieben KLAIBER, BROVERMAN und KOBAYASHI (1967) bei in-vitro-Versuchen mit Ratten eine Hemmung der MAO-Aktivität im Hypothalamus. Bei in-vitro-Untersuchungen verschiedener Hirnregionen und einiger Organe des männlichen Hundes durch HERZ (1974) und STRAEHLER-POHL (1975) zeigte sich in allen Geweben eine unterschiedlich starke Hemmung der MAO-Aktivität durch DHEA, Progesteron, Dienöstroldiacetat und Testosteron. Ein gleiches Ergebnis erhielt REH (1974) durch Testosteron bei seinen in-vitro-Untersuchungen mit Ratten. Demgegenüber konnten wir bei in-vitro-Versuchen mit Ratten keine hemmende Wirkung des Äthinylöstradiol nachweisen. Zum Teil kam es sogar (in Leber und Milz) zu einem geringfügigen Anstieg der MAO-Aktivität.

Die Ergebnisse unserer in-vitro-Versuche decken sich aber nicht mit denen unserer in-vivo-Versuche. Dieselbe Beobachtung machten STRAEHLER-POHL und REH bei ihren Hunden und Ratten. Es muß daher angenommen wer-

den, daß die physiologischen Verhältnisse für die Wirkung von Sexualhormonen auf die MAO-Aktivität von großer Bedeutung sind.

Bei unseren Langzeituntersuchungen mit 250 g bis 300 g schweren Ratten eines Stammes unbekannter Herkunft konnte in Herz und Ovarien nach sechs Tagen eine Zunahme der MAO-Aktivität festgestellt werden. Diese Ergebnisse decken sich teilweise mit denen von STRAEHLER-POHL, der an männlichen Hunden nach zehn und fünfzehn Tagen durch verschiedene Hormone (DHEA, Progesteron, Dienöstroldiacetat und Testosteron) eine Zunahme der MAO-Aktivität im Herzen beobachtete, ebenso wie REH bei seinen Versuchen mit Testosteron an weiblichen Ratten. Im Gegensatz zu der von uns beobachteten Wirkung von Äthinylöstradiol auf die MAO-Aktivität in den Ovarien konnte REH dort durch Testosteron keine Beeinflussung finden.

Ursache für diese unterschiedliche Wirkung verschiedener Hormone könnte eine unterschiedliche Affinität der Gewebe zu den betreffenden Hormonen oder deren Metabolisierung in den einzelnen Organen sein.

Die Vorversuche unserer Langzeitversuche zeigen bei doppelter Gabe von Äthinylöstradiol schon nach einer Stunde einen Anstieg der MAO-Aktivität im Herzen auf das Doppelte des Kontrollwertes. Eine Verdoppelung

dieser an sich schon unphysiologisch hohen Dosen des Hormons führt also zu einer stärkeren bzw. beschleunigten Beeinflussung der MAO-Aktivität. RFH kam bei seinen gleichartig angelegten Versuchen mit Testosteron zu einem ähnlichen Ergebnis. Auch in den Ovarien deutet sich im Vorversuch ein Anstieg an. Der hemmende Einfluß von Äthinylöstradiol auf Lunge, Niere und Milz wird im Vorversuch nur für die Milz erkennbar, bei der sich im Langzeitversuch schon nach 12 Tagen ein deutlicher Abfall der MAO-Aktivität zeigt (wohingegen sie bei Lunge und Niere erst nach 24 Tagen absinkt).

Bei den in-vivo-Kurzzeitversuchen fällt auf, daß sich bei diesen Tieren innerhalb von 1/2 bis 8 Stunden eine Hemmung in allen Organen mit Ausnahme von Herz und Ovarien zeigt. Am häufigsten findet sich ein Einfluß nach ca. einer Stunde.

5.6. Methodische Anmerkungen

Ein direkter Vergleich der Werte zwischen den Tieren der in-vitro- und in-vivo-Versuche ist schon wegen der verschiedenen Geschlechter nicht möglich (LEMAY und BERLINGUET 1967, STRAEHLER-POHL 1975). Ebenso ist er zwischen den Tieren der in-vivo-Kurz- und der in-vivo-Langzeitversuche nicht zulässig, da stamnesspezifische als auch gewichtsmäßige Unterschiede berücksichtigt werden müssen (PRANGE, WHITE, LIPTON and KINKEAD 1967; SCHABER 1974; SCHNEIDER 1974).

Außerdem müssen die interindividuellen Schwankungen, wie sie auch bei den reinrassigen Angehörigen eines Stammes auftreten, berücksichtigt werden. Da für unsere jeweiligen Versuchsserien nur eine begrenzte Anzahl von Tieren zur Verfügung standen, wirkten sich wohl auch diese individuellen Unterschiede auf die jeweiligen Standardabweichungen aus. Bei einzelnen Organen zeigten sich besonders starke Schwankungen. Wir finden sie sowohl beim Herzen, wo sie auch schon LEMAY und BERLINGUET (1967) ausgemacht wurden, als auch bei der Leber, wobei wir mit den Befunden von REH (1975) übereinstimmen. Diese individuellen Unterschiede sind aber bei einer solchen, der vorläufigen Orientierung dienenden und deshalb von den Versuchsansätzen her breiter gestreuten Arbeit nicht vollständig auszuschalten.

Nun weist die Labormethode selbst eine Standardabweichung von $\pm 10\%$ des Mittelwertes auf. Darüberhinaus zeigen sich aber bei unseren Untersuchungen auch höhere Abweichungen, die dadurch bedingt sein könnten, daß für unsere Versuche hauptsächlich weibliche Ratten zur Verfügung standen. Wie schon erwähnt, zeigen diese Tiere eine mit dem Zyklus schwankende MAO-Aktivität (ZOLOVICK, PEARSE, BOEHLKE und ELEFThERIOU 1966; KAMBERI and KOBAYASHI 1970; HOLZBAUER und YODIM 1972). SALSEDUC, JOFRE und IZQUIERDO (1966) beschrieben eine starke Erhöhung der MAO-Aktivität während des Östrus

in Teilen des Hirns (Cerebellum, Diencephalon und Rhombencephalon) sowohl als auch in den Ovarien. Da unsere Tiere zu unterschiedlichen Zeiten des Zyklus für den Versuch verwendet wurden, ergeben sich allgemein, und für die Ovarien im besonderen, hohe Standardabweichungen. Zudem war die Organmenge bei den Ovarien außerordentlich gering (Schwankungen zwischen min. 0,03 g bis max. 0,13 g), wodurch die Arbeit technisch erschwert wurde und mögliche Fehler sich stärker auswirken könnten.

Aus diesen Gründen ist es notwendig, die gewonnenen Ergebnisse durch weitere Versuche abzusichern. Besondere Beachtung verdient dabei der Anstieg der MAO-Aktivität in Herz und Ovar bei langfristiger Anwendung von Äthinylöstradiol - in Dosen, wie sie in vielverordneten kontrazeptiven Pharmaka allerdings nicht üblich sind.

6. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurde an 32 Ratten der Einfluß von Äthinylöstradiol auf die Aktivität der Monamin-oxydase in verschiedenen inneren Organen in-vitro und in-vivo untersucht.

In-vitro zeigte sich eine geringfügige Zunahme der MAO-Aktivität in Homogenaten aus Leber und Milz nach Zusatz von 2,5 mg und 5 mg Äthinylöstradiol, wohingegen in Hirn, Lunge, Herz, Niere und Hoden kein Einfluß erkennbar wurde.

In-vivo kam es kurzfristig nach intramuskulärer Gabe von 40 mg Äthinylöstradiol/kg Körpergewicht zu einer leichten Hemmung der MAO-Aktivität nach 1 Stunde in Hirn, Niere und Lunge. Nach 1/2 und 2 Stunden konnte in der Milz und nach 8 Stunden in der Leber eine mäßig hemmende Wirkung festgestellt werden. Ohne Einfluß blieb dieser Versuch auf Herz und Ovarien.

Eine starke Zunahme der MAO-Aktivität gerade in Herz und Ovarien erbrachten dagegen, nach täglichen Gaben von 10 mg Äthinylöstradiol/kg Körpergewicht, langfristige Untersuchungen über einen Zeitraum von 3 bis 24 Tagen. Jeweils am 6. Tag stieg die MAO-Aktivität an und nahm weiter zu: Beim Herzen bis zum 12. Tag und bei den Ovarien bis zum 24. Tag. Zu einer Hemmung kam es in Lunge, Niere und Milz. In Hirn und Leber zeigte sich kein Einfluß.

7. LITERATURVERZEICHNIS

FREICKMANN, H. J.:

Über die MAO-Aktivität in verschiedenen Hirnregionen
von Patienten mit Herzinsuffizienz.

Diss. Marburg 1974

HERZ, K. W.:

Über den Einfluß verschiedener Sexualhormone auf die
Monoaminoxidase-Aktivität in verschiedenen Hirnregionen
des Hundes.

Diss. Marburg 1974

HOLZBAUER, M. und M. B. H. YODIM:

Influence of endocrine glands on central and peripheral
monoamine oxidase activity.

Brit. J. Pharmacol. 44, pp. 355 - 356 (1972)

KARLSON, P.:

Kurzes Lehrbuch der Biochemie

Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1970

KAMBERI, I.A. and Y. KOBAYASHI:

Monoamine Oxidase Activity in the Hypothalamus and
various other brain areas and in some endocrine glands
of the rat during the Estrus cycle.

J. Neurochem. 17, pp. 261 - 268 (1970)

KLAIBER, E.L., D.M. BROVERMAN and Y. KOBAYASHT:

The Automatization cognitive Style, Androgens and
Monoamine Oxidase. Psychopharmacologia
(Berlin) 11, pp. 320 - 336 (1967)

KLAIBER, E.L., M.D. DONALD, D.M. BROVERMAN, W. VOGEL,

Y. KOBAYASHT and D. MORTARTY:

Effects of Estrogen Therapy on Plasma MAO-Activity and
EEG Driving Responses of Depressed Woman.
Americ. J. Pschat. 128, pp. 1492 - 1498 (1972)

KUHS, H.:

Über den Einfluß von Steroidhormonen auf die Aktivität der
MAO (in vitro Versuche).
Diss. Marburg 1973

KUSCHINSKY, G. und H. LÜLLMANN:

Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1972

LEMAY, A. et L. BERLINGUET:

Influence de la castration et des hormones sexuelles
sur l'Activité de la Monoamine Oxidase chez le rat.
Rev. Can. Biol. 26, pp. 295 - 303 (1967)

OPEN, H.:

Pers. Mitteilungen (1974)

PARVEZ, H. and S. PARVEZ:

The Regulation of Monoamine Oxidase Activity by adrenal cortical Steroids.

Acta endocrinol. 73, pp. 509 - 517 (1973)

POPOV, N., V. RÖSLER, CHR. THIEMANN und H. MATTHES:

Eine empfindliche Methode zur Bestimmung der MAO-Aktivität im Gewebe durch Aldehydsemicarbazonmessung. Acta biol.

med. germ. 26, S. 239 - 245 (1971)

PRANGE, A.J., J.E. WHITE, M.A. LIPTON and A.M. KINKEAD:

Influence of age on Monoamine-Oxidase and Catecholamin-O-Methyltransferase in rat tissues.

Live Sci. 6, pp. 581 - 587 (1967)

REH, W.:

Pers. Mitteilungen (1973)

SALSEDUC, M.M., I.J. JOFRE and J.A. IZQUIERDO:

Monoamine oxidase and Catechol-O-Methyltransferase Activity in cerebrale Structures and Sexual Organs of Rats during their Sexual Cycle.

Med. Pharmacol. exp. (Basel) 14, pp. 113 - 119 (1966)

SCHABER, C.D.:

Über die Altersabhängigkeit der Monoaminoxidase-Aktivität in einigen Organen der Ratte.

Diss. Marburg 1974

SCHNEIDER, G.:

Pers. Mitteilungen (1974)

SCHRÖDER, G.:

Kritische Untersuchungen über die Brauchbarkeit der Methode von POPOV und Mitarb. zur Bestimmung der MAO-Aktivität in Gewebehomogenaten.

Diss. Marburg 1973

STRAEHLER-POHL, J.:

Über den Einfluß verschiedener Sexualhormone auf die Monoaminoxidase-Aktivität in verschiedenen Organen des Hundes. (in - vitro - und in - vivo - Versuche)

Diss. Marburg 1975

WEINER, N.:

Substrate Specifity of Brain Amine Oxidase of **several** Mammals. Arch. Biochem. Biophys. 91, pp. 182 - 188
(1960)

WEISSBACH, H., T.E. SMITH, J.W. DALY, B. WITKOP and
S. UDENFRIEND:

A rapid spectrophotometric essay of monoamine oxidase based on the rate of disappearance of kynuramine.
J. Biol. Chem. 235, pp. 1160 - 1163 (1960)

WURTMAN, R.J. and J. Axelrod:

A sensitiv and specific assay for the estimation of monoamine oxidase.

Biochem. Pharm. 12, p. 1417 (1963)

ZOLOVICK, A.J., R. PEARSE, K.W. BOEHLKE and B.E. ELEFThERIOU:

Monoamine Oxidase Aktivity in Various Parts of the Rat Brain during the Estrus Cycle.

Science 154, p. 649 (1966)

Herrn Prof. Dr. H. Oepen spreche ich für die Überlassung des Themas dieser Arbeit und für seine fortwährende, hilfreiche Unterstützung meinen Dank aus.

Ich danke Herrn Dr. G. Schneider vom Institut für Humangenetik für die Hilfe bei der Beschaffung der Fachliteratur und für die selbstlose Hilfe bei der Durchführung der Versuche.

Von den Damen des Labors danke ich Frau S. Urlaub und Frau H. Grimm für ihre liebenswürdigen technischen Hilfen.

Marburg/Lahn, den

Lebenslauf

Am 8. Mai 1949 wurde ich als zweites Kind des Prokuristen Richard Schlicht und seiner Ehefrau Hannemie, geb. Engh, in Geldern geboren. Ich besitze die deutsche Staatsangehörigkeit.

Von 1955 - 1960 besuchte ich die katholische Volksschule in Geldern. Im gleichen Jahr wechselte ich auf das Friedrich-Spee-Gymnasium über, auf dem ich nach 9-jährigem Schulbesuch die Hochschulreife erlangte.

Zum Wintersemester 1968/69 nahm ich in Marburg das Studium der Naturwissenschaften auf (Physik, Chemie, Zoologie).

Eine anschließend durchgeführte und von mir bestandene Fachwechselerprüfung ermöglichte mir den Wechsel zur Zahnheilkunde. In diesem Fach legte ich 1969 die naturwissenschaftliche Vorprüfung und 1971 die zahnärztliche Vorprüfung ab. Die klinischen Semester studierte ich ebenfalls in Marburg und bestand dort im August 1974 das Staatsexamen.

Meine akademischen Lehrer waren die Damen und Herren
Professoren und Dozenten:

Amon, Aurich, Bernhardt, Bode, Castenholz, Dehnicke,
Dimroth, Engelhardt, Haberich, Hennis, Hensel, Hering,
Heuser, Hort, Janke, Karlson, Keil, Koeke, Kühnel, Nie-
meyer, Nöth, Oepen, Petry, Pfütz, Riecken, Rohen. Rose-
mann, Rupec, Schienbein, Schiff, Schmid, Schmidt,
Schmitz-Moormann, Schneider, Schnell, Scriba, Seidel,
Spröggel, Walcher, Wendt.

